

THESIS

- München - 1963

Lane up

Untersuchung zur
hyaluronidase-spreading-hemmenden Wirkung
der Salicylsäure und Huminsäure
nach Badeapplikation am Menschen

von

MARGARETHE WINDSHEIMER

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. W. Seitz)

Untersuchung zur hyaluronidase-spreading-hemmenden Wirkung
der Salicylsäure und Huminsäure nach
Badeapplikation am Menschen

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Margarethe Windsheimer

aus

Weilheim /Obb.

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Prof. Dr. A. Herrmann

Tag der mündlichen Prüfung: 25. Juni 1963

Inhaltsverzeichnis

Problematik	4
Eigene Versuche	6
Methodik	6
Versuchsreihen	7
Versuchsergebnisse	7
Statistische Auswertung	8
Diskussion	14
Zusammenfassung	15
Tabellenanhang	16
Literaturverzeichnis	26



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153505_0006

Problematik

Für die Aufrechterhaltung der normalen Gefäßpermeabilität ist das Hyaluronsäure-Hyaluronidase-System entscheidend ¹. In den letzten Jahren wurde mehrfach auf die ätiologische Bedeutung einer beim Rheumatismus erhöhten Kapillarpermeabilität hingewiesen ²⁻⁹.

Die Hyaluronsäure als wesentlicher Bestandteil interzellulärer Kittsubstanz ist ein Mucopolysaccharid aus Glukuronsäuren und Azetylglukosaminmolekülen aufgebaut. Bei vermehrter Hyaluronidaseaktivität, wodurch das Hyaluronsäure-Hyaluronidase-System in Disharmonie gebracht wird, wird durch Depolymerisation und Hydrolyse der Polymerisationsgrad der Mucopolysaccharidsäuren so geändert, daß daraus eine erhöhte Permeabilität der Zwischenzells substanz resultiert. Flüssigkeit kann nun aus den Kapillaren austreten, es bildet sich das perivaskuläre Ödem, die Sauerstoffversorgung des betroffenen Gewebes ist gestört. Nach G o o d ¹⁰ und L e o n h a r t s b e r g e r ¹¹ entstehen aber durch langandauernde Hypoxämie die charakteristischen histologischen und anatomischen Veränderungen beim Rheumatismus.

Die hyaluronidasehemmende Wirkung der Antirheumatika ist vermutlich ein wichtiger Teilfaktor ihres therapeutischen Prinzips ¹²⁻¹⁴.

M a t h i e s konnte bei vielen antirheumatisch wirksamen Substanzen eine hyaluronidasehemmende Wirkung im Spreadingtest nachweisen ¹²⁻¹⁴. Da zur Rheumatherapie verschiedene Substanzen auch kutan angewandt werden und damit eine Resorption durch die Haut diskutiert werden muß, ist die Untersuchung der hyaluronidasehemmenden Wirkung bestimmter Stoffe bei kutaner Applikation nicht uninteressant.

Die Haut vermag nicht nur Wasser und Elektrolyte auszuschcheiden, sondern sie besitzt auch die Fähigkeit, gewisse Stoffe auf dem umgekehrten Weg einzuschleusen ¹⁵. Der Resorptionsweg der perkutan wirksamen Substanzen verläuft hauptsächlich über die Talgausführungsgänge ¹⁶. Ein Teil geht durch die Lymphspalten zu den regio-

nen Lymphknoten und von dort über den Ductus Thoracicus in die Blutbahn, während der andere Teil von den subpapillären Blutgefäßen in den Kreislauf gebracht wird ¹⁵.

Die Salicylsäure und viele Abkömmlinge der Salicylsäure wie Salicylsäureester, Azetylsalicylsäure, Salicylamid ¹⁵, auf verschiedenen Salbengrundlagen zur perkutanen Therapie verwendet, finden auf Grund ihrer keratolytischen Wirkung gut Eingang in die Haut. **M a t h i e s** und Mitarbeiter haben durch Versuche an Ratten mit Hilfe des Spreading-Tests gefunden, daß die Salicylsäure sowie die Huminsäuren, die als wirksame Bestandteile des Moores angesehen werden, auch in Form von Bädern appliziert, cutan eine hyaluronidasehemmende Wirkung haben. **S t o j a n o f f** ¹⁷, **L i n g n a u** ¹⁸, **L u t z** ¹⁹ und **H a u p t** ²⁰ haben eine deutliche, statistisch hoch gesicherte Hemmung der Hyaluronidaseaktivität nach Moorbädern bzw. Salicylsäurebädern an Ratten festgestellt. Es interessierte nun die Wirkung dieser Bäder auf die menschliche Haut. So wurden hier Bäder mit Salicylsäure und Huminsäure verabreicht und im Spreadingtest die Beeinflussung des durch Hyaluronidase gesteigerten Farbstoffes am Menschen untersucht.

Eigene Versuche

Methodik:

In drei Versuchsreihen mit je 4 gesunden Versuchspersonen im Alter von 20 bis 25 Jahren wurde geprüft, ob und in welchem Ausmaß beim Menschen durch ein 20 Minuten dauerndes Vollbad mit Salicylsäure- bzw. Huminsäure-Zusatz eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität im Spreadingtest bewirkt werden kann. Die Salicylsäure wurde als freie Salicylsäure dem Bad zugefügt, die Huminsäure als Natriumhuminat. Es kamen in einem Bad von 150 Litern 25,0 g Salicylsäure bzw. 5,0 g Natriumhuminat zur Wirkung. Beide Substanzen waren mit einem Netzmittel vermischt, dessen Anteil 5,0 g je Bad betrug.

Die Methode des hier angewandten Hyaluronidase-Spreading-Tests ist schon vielfach ausführlich beschrieben worden^{17, 18, 20}. Die zu vergleichenden 8 Quaddelpaare, bestehend aus reiner Farbstoffquaddel (F) und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel (FH), wurden intracutan unterhalb des Nabels lokalisiert. Die verwendete Farbstofflösung war eine 0,1%ige Lösung von Patentblau-VF in physiologischer Kochsalzlösung, das nach E n d e l e²¹ für Versuche am Menschen ein geeigneter Farbstoff ist, da es die dazu erforderlichen Eigenschaften besitzt, nämlich: Brauchbarkeit für den Spreading-Test, gute Verträglichkeit und rasche Resorption. In einer FH-Quaddel zu 0,1 ccm waren zusätzlich 7,5 IE Hyaluronidase enthalten. Mit Hilfe einer Tuberkulinspritze konnte sehr genau pro Quaddel 0,1 ccm der Flüssigkeit injiziert werden.

Zunächst wurde die Größe von F und FH vor dem Bad ermittelt. Anschließend badete die Versuchsperson 20 Minuten in der jeweiligen Badezubereitung bei einer Anfangstemperatur von 38° Celsius. Die ersten Quaddeln, sofort nach Beendigung des Bades gesetzt, wurden nach 10 Minuten abgelesen. Im weiteren Verlauf des Versuches bis zu 90 Minuten nach dem Bad wurde viertelstündlich ein Quaddelpaar gesetzt, die Flächenausdehnung jeweils nach 10 Minuten markiert und durch Übertragung auf einen Film festgehalten, auf dem die Fläche der Quaddeln dann planimetrisch bestimmt werden konnte.

Versuchsreihen

I. Versuchsreihe:

In der I. Versuchsreihe wurde in der angeführten Methode geprüft, ob nicht schon ein reines Wasserbad eine die Hyaluronidaseaktivität hemmende Wirkung habe, um zeigen zu können, inwieweit der hyaluronidasehemmende Effekt der beigefügten Salicylsäure oder dem Natriumhuminat zuzuschreiben ist.

II. Versuchsreihe:

Die II. Versuchsreihe sollte die hyaluronidasehemmende Wirkung der Salicylsäurebäder feststellen.

III. Versuchsreihe:

Die III. Versuchsreihe wurde durchgeführt, um die Hyaluronidasehemmung nach Natriumhuminat-Bädern zu prüfen.

Versuchsergebnisse

Die Versuche haben ergeben: Ein hyaluronidasehemmender Effekt des reinen Wasserbades ist nicht zu erkennen (Ergebnisse Tabelle 1). Nach den Salicylsäurebädern zeigt sich eine deutliche Hemmung der Ausbreitung der FH-Quaddeln mit dem Maximum der Hemmung 15 Minuten nach dem Bad (Tabelle 2). Auch die Bäder mit Natriumhuminat-Zusatz bewirken eine Hemmung der Ausbreitung der FH-Quaddel (Tabelle 3). Das Maximum kann ebenfalls 15 Minuten nach dem Bad gemessen werden. Die Stärke des maximalen hyaluronidasehemmenden Effektes ist nach beiden Bädern nahezu gleich mit einer mittleren Flächenverminderung gegenüber der FH-Quaddelfläche vor dem Bad von 36 und 37 qmm.

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

1. Statistische Methodik

Primäre Aufgabe der statistischen Auswertung von Versuchsergebnissen ist es, die experimentelle Variabilität zu schätzen. Dies geschieht in der Weise, daß man aus der Gesamt-Variabilität der beobachteten Meßwerte diejenigen Anteile eliminiert, die sich auf systematische Faktoren zurückführen lassen. Bei der hier vorliegenden Versuchsanordnung waren folgende systematischen Faktoren zu berücksichtigen:

1. Individuelle Reaktionslage des Versuchsteilnehmers;
2. Zeitpunkt innerhalb des Versuches, zu dem die Quaddel gesetzt wurde.

Zur Schätzung der experimentellen Variabilität zogen wir Varianz-Analysen heran, denen ein lineares statistisches Modell zugrunde liegt. Die experimentelle Variabilität wurde dabei für die beiden Quaddel-Typen getrennt geschätzt.

Unter den 8 "Stufen" einer Versuchsreihe verstehen wir die einzelnen Zeitpunkte einschließlich der Kontrolle, zu denen Quaddeln gesetzt wurden. Unter "Versuchs-Zeiten" verstehen wir lediglich diejenigen Quaddeln, die nach dem bad gesetzt wurden. Das lineare statistische Modell, das den Varianz-Analysen zugrunde liegt, geht von der Annahme aus, daß in 1. Näherung der Einfluß der beiden systematischen Faktoren "Stufen" und "Versuchsteilnehmer" voneinander unabhängig ist und sich in additiver Weise überlagert. Bezeichnet $x(V;S)$ den am Versuchsteilnehmer V in der Versuchsstufe S beobachteten Meßwert, so wird angenommen, daß sich dieser Meßwert wie folgt darstellen läßt:

$$x(V;S) = a_V + b_S + K + \varepsilon_{VS}.$$

Hierin bedeutet a_V eine Konstante, die nur von dem Versuchsteilnehmer abhängt und dessen Einfluß auf das Versuchsergebnis zum Ausdruck bringt; b_S eine Konstante, die nur von der jeweiligen Stufe des Versuches abhängt und deren Einfluß auf das Versuchsergebnis ausdrückt. Die Konstante K dient nur Zwecken der Normierung; sie wird so bestimmt, daß im Mittel über alle Versuchswerte die

Einflüsse der Versuchsteilnehmer und diejenigen der Versuchsstufen 0 werden. Die Größe $\epsilon_{V,S}$ ist eine "zufallsveränderliche", welche die zufällige Abweichung des tatsächlich beobachteten Meßwertes von dem "Erwartungswert" des linearen statistischen Modelles zum Ausdruck bringt. Es wird angenommen, daß die Variabilität dieser Zufallsveränderlichen unabhängig ist von dem jeweiligen Versuchsteilnehmer und der jeweiligen Versuchsstufe; sie wird in den Varianz-Analysen als experimentelle Variabilität geschätzt.

Die Schätzung der experimentellen Variabilität in den Varianz-Analysen erfolgt in der Weise, daß zunächst aus der Gesamt-Variabilität diejenigen Anteile ausgesondert werden, welche als Folge der systematischen Faktoren angesehen werden müssen (Varianz zwischen Patienten; Varianz zwischen Stufen). Die nach Eliminierung dieser systematischen Faktoren noch verbleibende Variabilität wird als Rest-Varianz bezeichnet und zur Schätzung der experimentellen Variabilität herangezogen.

Neben der Schätzung der experimentellen Variabilität hat die statistische Auswertung auch noch die Schätzung der Konstanten vorzunehmen, die in dem statistischen Modell enthalten sind. Für die hier vorliegende Fragestellung interessiert jedoch tatsächlich nur die Schätzung der Konstanten b_S ; tatsächlich interessiert sogar nur die Differenz zwischen den zu zwei verschiedenen Stufen gehörigen Konstanten. Die Schätzung dieser Differenz geschieht in folgender Weise. Bezeichnet zunächst $\bar{X}(S)$ das arithmetische Mittel der in einer Versuchsstufe bei allen Versuchsteilnehmern beobachtete Meßwerte, so ist diese Größe ein Schätzwert für $b_S + K$, d.h. es ist

$$\bar{X}(S) \sim b_S + K.$$

Die Mittelwertsdifferenz $\bar{X}(S_1) - \bar{X}(S_2)$ stellt somit eine Schätzung für die Differenz zwischen den Konstanten dar, welche den systematischen Einfluß der beiden Versuchsstufen s_1 und S_2 zum Ausdruck bringen,

$$\bar{X}(S_1) - \bar{X}(S_2) \sim b_{S_1} - b_{S_2}.$$

Von besonderem Interesse ist in dem hier vorliegenden Zusammenhang

der Unterschied zwischen den Kontroll-Quaddeln und den Quaddeln zu den verschiedenen Versuchszeiten. Diesen Unterschied zu dem Zeitpunkt t bezeichnen wir mit

$$D(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(K) \sim b_t - b_K.$$

Zur Schätzung eines statistischen Parameters gehört auch die Angabe der Präzision, mit welcher dieser Parameter geschätzt werden kann. Hierzu ist es üblich, das 95%-Vertrauensintervall für den geschätzten Parameter anzugeben. Dieses Vertrauensintervall sagt aus, welche Abweichung maximal zwischen dem Schätzwert und der geschätzten Größe vorliegen kann, wobei angenommen wird, daß dieser Maximalwert höchstens in 5% der Fälle überschritten wird. Als Grundlage für die Berechnung der Vertrauensintervalle dient die geschätzte experimentelle Variabilität.

Die vorliegende Versuchsanordnung gestattet kein Urteil darüber, ob das gewählte statistische Modell den realen Sachverhalt zutreffend wiedergibt. Einen gewissen Anhaltspunkt kann man allerdings aus der Größe der Varianzen $s^2(S)$ zwischen den Meßwerten der gleichen Versuchsstufe an den verschiedenen Patienten gewinnen. Trifft das gewählte statistische Modell zu, so muß erwartet werden, daß diese Varianzen für die verschiedenen Versuchsstufen praktisch den gleichen Wert besitzen; d.h. daß sie untereinander homogen sein müssen. Ob dies zutrifft, kann mit Hilfe des Bartlett-Tests geprüft werden. Wir haben diese Prüfung für sämtliche Versuchsreihen durchgeführt; das Ergebnis zeigt, daß zumindest in dieser Hinsicht das gewählte statistische Modell als zutreffend angesehen werden kann.

2. Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung sind in den Tabellen 4-9 wiedergegeben; in den Tabellen 4-6 sind die Varianz-Analysen dargestellt, in den Tabellen 7-9 sind die Stichprobenparameter "Mittelwert und Varianzen" angegeben.

In den Tabellen der Varianz-Analysen bedeutet

n : Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;

SAQ : Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;

- MAQ: Mittleres-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
 $F_{\text{emp.}}$: Varianz-Quotient zwischen der Varianz-Komponente und der Rest-Varianz;
 p : Überschreitungswahrscheinlichkeit, die dem Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung maximal zukommt.

Am Fuße jeder Varianz-Analyse ist das Ergebnis des Bartlett-Tests angegeben; hierin bedeutet:

- n : Zahl der Freiheitsgrade der Chi-Quadrat-Prüfverteilung;
 $\chi_{\text{emp.}}^2$: Prüfgröße des Bartlett-Tests;
 p : Überschreitungswahrscheinlichkeit, welche der Prüfgröße $\chi_{\text{emp.}}^2$ in der zugehörigen Chi-Quadrat-Prüfverteilung mindestens zukommt.

Außerdem haben wir am Fuße der Varianz-Analysen die Präzisionsmaße angegeben, die sich aus den Schätzungen der experimentellen Variabilität ergaben. Es bedeutet hierin:

- s : Streuung der Einzelwerte um ihren "Erwartungswert";
 δ_1 : 95%-Vertrauensintervall für das arithmetische Mittel $\bar{x}(S)$;
 δ_2 : 95%-Vertrauensintervall für die Differenz zwischen zwei Mittelwerten, insbesondere für die Differenz $D(t)$.

Alle diese Ergebnisse sind getrennt für die reine Farbstoff-Quaddel und für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel angegeben.

In dem zweiten Teil der Tabelle haben wir zunächst für die einzelnen Stufen die Größen der Mittelwerte $\bar{x}(S)$ angegeben, außerdem die Größe der geschätzten Varianzen $s^2(S)$ innerhalb der Werte einer Stufe zwischen den verschiedenen Patienten. Diese Varianzen wurden dann im Bartlett-Test auf ihre Homogenität hin geprüft.

In diesem Teil der Tabellen ist außerdem der Schätzwert $D(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(K)$ für den Unterschied in der Ausbreitung des betreffenden Quaddel-Typus zum Zeitpunkt t gegenüber der Kontrolle angegeben. Für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel ist die übliche Umrechnung dieser Mittelwertsdifferenz in eine prozentuale Hemmung in der Spalte

"Hemmung" angegeben. Die Irrtumswahrscheinlichkeit, mit welcher behauptet werden kann, daß eine Mittelwertsdifferenz $D(t)$ statistisch gesichert von 0 verschieden ist, wurde in der Spalte "Sicherung" dieser Tabellen angegeben. Da eine solche statistische Sicherung allerdings nur vorliegt, wenn diese Irrtumswahrscheinlichkeit maximal den Wert 5% besitzt, haben wir nur in diesem Falle die Irrtumswahrscheinlichkeit angeführt. In allen anderen Fällen müßte diese Irrtumswahrscheinlichkeit mit einem Wert veranschlagt werden, der über 5% liegt.

3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Der Bartlett-Test ergab in jedem Fall Prüfgrößen, deren Überschreitungswahrscheinlichkeit wesentlich größer als 50% sind. Dies bedeutet, daß die Hypothese der Homogenität der Varianzen, die miteinander verglichen wurden, beibehalten werden kann; darüber hinaus bedeutet dies, daß zumindest in dieser Richtung das gewählte statistische Modell den realen Sachverhalt zutreffend wiedergibt.

Nunmehr sei das Ergebnis der statistischen Auswertung hinsichtlich des Verhaltens der reinen Farbstoff-Quaddel bzw. der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel für die einzelnen Versuchsreihen getrennt besprochen.

Versuchsreihe I: Es konnte weder für die reine Farbstoff-Quaddel noch für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel eine statistisch gesicherte Veränderung in der Ausbreitung dieser Quaddel-Typen nach dem Bad gegenüber den Kontrollen festgestellt werden. Ein Einfluß des Wasserbades auf die Ausbreitungsgeschwindigkeit der beiden Quaddel-Typen kann somit ausgeschlossen werden. Die experimentelle Variabilität in dieser Versuchsreihe ist ebenfalls sehr klein; sie hängt allerdings etwas von dem jeweiligen Quaddeltypus ab. Die Größe der Vertrauensintervalle zeigt an, daß bei der reinen Farbstoff-Quaddel bereits ein Mittelwertsunterschied von 3 mm^2 als real hätte angesehen werden können; bei der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel wäre der entsprechende Wert 5 mm^2 . Dies zeigt, daß die oben gemachte Aussage, daß ein Einfluß des Wasserbades nicht nachweisbar ist, eine große Präzision besitzt; da ja bereits Mittelwertsunterschiede von maximal 5 mm^2 als solche Einflüsse statistisch hätten erkannt werden können.

Versuchsreihe II: Für die reine Farbstoff-Quaddel ergibt sich kein Hinweis, daß diese durch das Bad in statistisch gesicherter Weise beeinflußt wird. Dagegen sind Unterschiede zwischen den Versuchsstufen der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln statistisch hoch gesichert. Es zeigt sich, daß bis zu 60 Minuten nach dem Bad statistisch hoch gesicherte Hemmungen in der Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vorliegen, zum Zeitpunkt 75 Minuten nach dem Bad liegt noch eine statistisch schwach gesicherte Hemmung der Ausbreitungsgeschwindigkeit vor.

Die Versuchsvariabilität in dieser Versuchsreihe ist sehr klein; sie hängt jedoch etwas von dem Quaddeltypus ab. Bei der reinen Farbstoff-Quaddel ist sie erheblich kleiner als bei der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel. Aus der Größe der Vertrauensintervalle σ_2 ergibt sich, daß für die reine Farbstoff-Quaddel bereits eine Mittelwertsdifferenz von maximal 3 mm^2 und bei der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel eine Mittelwertsdifferenz von maximal 4 mm^2 als reale Wirkungen des Bades angesehen werden können.

Versuchsreihe III: Hier liegen völlig analoge Verhältnisse vor wie bei der Versuchsreihe 2; eine gesonderte Diskussion ist somit nicht erforderlich.

Diskussion

Die Versuche am Menschen über die hyaluronidasespreadinghemmende Wirkung der Salicylsäure und Huminsäure nach Badeapplikation haben gezeigt, daß eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität nach Salicylsäurebädern wie nach Natriumhuminatbädern deutlich erkennbar und bis zu 60 Minuten nach dem Bad statistisch hoch gesichert, bis zu 75 Minuten nach dem Bad statistisch schwach gesichert ist. Die Stärke des hyaluronidasehemmenden Effektes ist mit einer Mittelwertsdifferenz von maximal -37 mm^2 nach Salicylsäurebädern und -36 mm^2 nach Natriumhuminatbädern praktisch die gleiche. Nach dem Wasserbad konnte eine statistisch gesicherte Veränderung in der Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel nicht gefunden werden. Ein hemmender Einfluß der Wärme des Bades auf die Hyaluronidaseaktivität ist auszuschließen, da bereits L u t z ¹⁹ nachgewiesen hat, daß kalte Salhuminbäder an Ratten appliziert eine ebensogroße hyaluronidasehemmende Wirkung zeigen wie die gleichen Bäder bei 37°C . Die Möglichkeit einer Einwirkung des den Substanzen beigefügten Netzmittels auf die Hyaluronidaseaktivität kann nach den Ergebnissen einer von P r o b s t ²² durchgeführten Versuchsreihe ausgeschlossen werden.

Zusammenfassung

Mit der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel-Methode konnte gefunden werden, daß sowohl Salicylsäure wie Natriumhuminat als Bad verabreicht kutan eine hyaluronidasehemmende Wirksamkeit haben. Beide Substanzen unterscheiden sich praktisch nicht in der Stärke ihres hyaluronidasehemmenden Einflusses.

Tabellenanhang

Zeit	F	FH	F	FH	F	FH	F	FH
leer	<u>68 qmm</u>	<u>106</u>	<u>72 qmm</u>	<u>121</u>	<u>78 qmm</u>	<u>118</u>	<u>82 qmm</u>	<u>125</u>
0'	69	101	72	118	78	116	85	119
15'	67	99	75	117	77	117	83	121
30'	70	105	71	118	80	112	83	116
45'	70	108	71	113	81	120	80	122
60'	71	109	72	112	79	114	79	120
75'	68	104	77	117	82	116	81	123
90'	<u>68</u>	<u>107</u>	<u>71</u>	<u>116</u>	<u>81</u>	<u>115</u>	<u>84</u>	<u>120</u>
Proband Nr. 1			Nr. 2		Nr. 3		Nr. 4	

T a b e l l e 1
(Versuchsreihe I, reines Wasserbad)

Zeit	F	FH	F	FH	F	FH	F	FH
leer	<u>69 qmm 128</u>		<u>68 qmm 119</u>		<u>80 qmm 129</u>		<u>72 qmm 124</u>	
0'	72	92	66	85	80	94	68	91
15'	68	90	67	82	82	93	68	88
30'	69	90	66	84	83	95	73	90
45'	67	102	69	97	85	106	72	104
60'	67	107	68	104	84	114	69	115
75'	68	117	68	113	81	121	73	120
90'	<u>72 126</u>		<u>67 115</u>		<u>82 127</u>		<u>70 120</u>	
Proband Nr. 1			Nr. 2		Nr. 3		Nr. 4	

T a b e l l e 2
(Versuchsreihe II, Salicylsäure)

Zeit	F	FH	F	FH	F	FH	F	FH
leer	<u>73 qmm</u>	<u>125</u>	<u>66 qmm</u>	<u>112</u>	<u>68 qmm</u>	<u>124</u>	<u>78 qmm</u>	<u>121</u>
0'	72	94	64	80	73	89	82	86
15'	69	90	66	79	70	84	79	85
30'	72	97	63	88	67	88	78	90
45'	71	102	67	95	68	96	76	96
60'	70	109	66	102	69	103	79	106
75'	72	120	66	107	72	115	79	118
90'	<u>70</u>	<u>124</u>	<u>67</u>	<u>115</u>	<u>71</u>	<u>120</u>	<u>77</u>	<u>127</u>
Proband Nr. 1			Nr. 2		Nr. 3		Nr. 4	

T a b e l l e 3
(Versuchsreihe III, Huminsäure)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Patienten	3	894	298,0	72,68	0,1%
Zwischen Stufen	7	11	1,6	-	
Rest-Varianz	21	86	4,1		
Gesamt-Varianz	31	991	32,0		

n = 7; $\chi^2_{\text{emp.}} = 0,948$; p > 99%

s = 2,0237

$\zeta_1 = 2,1042$

$\zeta_2 = 2,9759$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Patienten	3	1.104	368,0	46,00	0,1%
Zwischen Stufen	7	66	9,4	1,17	-
Rest-Varianz	21	168	8,0		
Gesamt-Varianz	31	1.338	43,1		

n = 7; $\chi^2_{\text{emp.}} = 2,635$; p > 90%

s = 2,8284

$\zeta_1 = 2,9410$

$\zeta_2 = 4,1592$

T a b e l l e 4
(Versuchsreihe I, Varianz-Analysen)

Varianz-Komponente	Farbstoff-Quaddel				
	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Patienten	3	1.076	358,7	96,95	0,1%
Zwischen Stufen	7	13	1,8	-	
Rest-Varianz	21	77	3,7		
Gesamt-Varianz	31	1.166	37,6		

$$n = 7; \chi^2_{\text{emp.}} = 0,802; \quad p > 99\%$$

$$s = 1,9149$$

$$\sigma_1 = 1,9911$$

$$\sigma_2 = 2,8159$$

Varianz-Komponente	Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel				
	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Patienten	3	421	140,3	40,09	0,1%
Zwischen Stufen	7	6.415	916,4	100,00	0,1%
Komponente 1.Grades	1	887	886,9	100,00	0,1%
" 2.Grades	1	3.484	3.483,4	100,00	0,1%
" 3.Grades	1	1.824	1.824,4	100,00	0,1%
" 4.Grades	1	156	156,0	44,57	0,1%
" 5.Grades	1	15	15,0	4,29	-
" 6.u.höh.Gr.	2	49	24,5	7,00	1%
Rest-Varianz	21	75	3,5		
Gesamt-Varianz	31	6.911	222,9		

$$n = 7; \chi^2_{\text{emp.}} = 1,024; \quad p > 99\%$$

$$s = 1,8898$$

$$\sigma_1 = 1,9650$$

$$\sigma_2 = 2,7790$$

T a b e l l e 5
(Versuchsreihe II, Varianz-Analysen)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	P
Zwischen Patienten	3	692	230,7	10,99	0,1%
Zwischen Stufen	7	22	3,1	1,48	-
Rest-Varianz	21	58	2,1		
Gesamt-Varianz	31	772	24,9		

$$n = 7; \chi^2_{\text{emp.}} = 1,736; p > 95\%$$

$$s = 1,6619$$

$$\sigma_1 = 1,7280$$

$$\sigma_2 = 2,4438$$

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	P
Zwischen Patienten	3	439	146,3	24,80	0,1%
Zwischen Stufen	7	6.277	896,7	100,00	0,1%
Komponente 1. Grades	1	1.088	1.087,8	100,00	0,1%
" 2. Grades	1	3.580	3.579,7	100,00	0,1%
" 3. Grades	1	1.316	1.316,3	100,00	0,1%
" 4. Grades	1	230	230,1	39,00	0,1%
" 5. Grades	1	63	62,9	10,66	1%
" 6. u. höh. Grad.	2	0	-		
Rest-Varianz	21	125	5,9		
Gesamt-Varianz	31	6.841	220,7		

$$n = 7; \chi^2_{\text{emp.}} = 2,490; p > 90\%$$

$$s = 2,4398$$

$$\sigma_1 = 2,5369$$

$$\sigma_2 = 3,5877$$

T a b e l l e 6

(Versuchsreihe III, Varianz-Analysen)

Farbstoff-Quaddel

	$\bar{x}(S)$	$s^2(S)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Sicherung
v	75	38,7		
0'	76	50,0	+ 1	-
15'	75	43,7	0	-
30'	76	42,0	+ 1	-
45'	75	33,7	0	-
60'	75	19,0	0	-
75'	77	40,7	+ 2	-
90'	76	59,3	+ 1	-

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

	$\bar{x}(S)$	$s^2(S)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Sicherung
v	117	67,0		
0'	113	71,0	- 4	-
15'	113	97,0	- 4	-
30'	113	33,0	- 4	-
45'	116	41,7	- 1	-
60'	114	21,7	- 3	-
75'	115	63,2	- 2	-
90'	114	29,7	- 3	-

T a b e l l e 7

(Versuchsreihe I, Mittelwerte und Varianzen)

Farbstoff-Quaddel				
	$\bar{x}(S)$	$s^2(S)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Sicherung
v	72	29,7		
0'	71	38,3	- 1	-
15'	71	51,7	- 1	-
30'	73	55,0	+ 1	-
45'	73	65,7	+ 1	-
60'	72	64,7	0	-
75'	72	34,7	0	-
90'	73	42,3	+ 1	-

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel				
	$\bar{x}(S)$	$s^2(S)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Sicherung
v	125	20,7		
0'	90	15,0	- 35	0,1%
15'	88	21,7	- 37	0,1%
30'	90	20,3	- 35	0,1%
45'	102	15,0	- 23	0,1%
60'	110	28,7	- 15	0,1%
75'	118	13,0	- 7	0,1%
90'	122	31,3	- 3	5,0%

T a b e l l e 8
(Versuchsreihe II, Mittelwerte und Varianzen)

Farbstoff-Quaddel				
	$\bar{x}(S)$	$s^2(S)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Sicherung
v	71	29,0		
0'	73	54,3	+ 3	-
15'	71	31,3	0	-
30'	70	42,0	- 1	-
45'	70	16,3	- 1	-
60'	71	31,3	0	-
75'	72	28,3	+ 1	-
90'	71	17,7	0	-

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel				
	$\bar{x}(S)$	$s^2(S)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(K)$	Sicherung
v	120	35,0		
0'	87	34,3	- 33	0,1%
15'	84	20,3	- 36	0,1%
30'	91	18,3	- 29	0,1%
45'	97	10,3	- 23	0,1%
60'	105	10,0	- 15	0,1%
75'	115	32,7	- 5	1%
90'	121	27,0	+ 1	-

T a b e l l e 9
(Versuchsreihe III, Mittelwerte und Varianzen)

Literaturverzeichnis

- 1) Gibian, H.: Erg. d. Enzymforsch. 13, 1 (1954)
- 2) Armento, L. u. Mitarb.: Dtsch. med. Wschr. 62, 1325 (1936)
- 3) Brown, E.E. u. Wasson, V.: J. Pediatr. St. Louis 18, 328 (1941)
- 4) Epstein, E.L. u. Grennspan, E.B.: Arch. Int. Med. Chicago 1077 (1941)
- 5) Gil, J.R. u. Guerra, F.: Arch. Int. cardiol. Med. 17, 733 (1947)
- 6) Jaworski, A.A. u. Mitarb.: J. Pediatr. 37 697 (1950)
- 7) Ratschow, M.: Ther. Gegenw. 90, 129 (1951)
- 8) Schmidt, H. u. Mitarb.: Dtsch. med. Wschr. 75, 790 (1950)
- 9) Klose, W.: Zschr. Rheumaforsch. 12, 136 (1953)
- 10) Good, M.G.: Dtsch. med. Wschr. 76, 830 (1951)
- 11) Leonhartsberger, F.: Münch. med. Wschr. 96, 987 (1954)
- 12) Mathies, H.: Fortschr. d. Med. 74, 35 (1956)
- 13) Mathies, H.: Pharmazie 12, 1 (1957)
- 14) Mathies, H.: Med. Klin. 52, 1676 (1957)
- 15) Maehder, K.: Med. Klin. 50, 1679 (1955)
- 16) Czetsch-Lindenwald, Schmidt-La Baume: Salben, Puder, Externa.
Springer-Verlag, Heidelberg 1950
- 17) Stojanoff, S.: Diss. München 1960
- 18) Lingnau, W.: Diss. München 1960
- 19) Lutz, D.: Diss. München 1961
- 20) Haupt, E.: Diss. München 1959
- 21) Endele, W.: Diss. München 1960
- 22) Probst, E.: Diss. München im Druck

Herrn Professor Dr. W. Seitz danke ich für die Überlassung des
Themas, Herrn Dr. H. Mathies für die Unterstützung bei der Ab-
fassung der Arbeit und Herrn Dipl.-Math. K. Liebrich für die
Durchführung der statistischen Auswertung. Das Patentblau wurde
freundlicherweise von den Farbwerken Hoechst zur Verfügung ge-
stellt.

Am 7. Februar 1938 wurde ich in Gunzenhausen geboren. Ich besuchte 4 Jahre die Volksschule in Weilheim, trat 1948 in das humanistische Gymnasium in Weilheim ein, wo ich 1957 die Reifeprüfung ablegte. Im Herbst begann ich das Medizinstudium an der Universität München. Hier werde ich 1963 das Staatsexamen ablegen.

Examen am 18. Juni 1963 beendet



